



Lactate

Para la determinación de lactato en plasma y líquido cefalorraquídeo

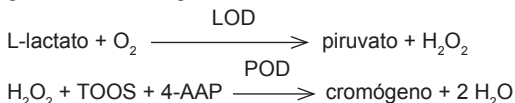
SIGNIFICACION CLINICA

El ácido láctico, un intermediario del metabolismo anaeróbico de los hidratos de carbono, proviene principalmente del músculo esquelético, cerebro, piel, médula renal y eritrocitos. La concentración de lactato en la sangre dependerá del balance entre su producción en estos tejidos y su metabolismo en hígado y riñones. Aproximadamente el 65% del lactato generado es utilizado por el hígado principalmente en el proceso de gluconeogénesis. Cuando la concentración de lactato es mayor a 18 mg/dL (2 mmol/L) el clearance hepático de lactato se satura aumentando su nivel en sangre. Un ejemplo concreto sucede durante el ejercicio prolongado en el que los niveles de lactato pueden aumentar significativamente. El aumento de lactato en sangre asociado a una disminución del pH arterial recibe el nombre de acidosis láctica. La disminución de la oxigenación tisular (hipoxia) es la causa más común de acidosis láctica por ejemplo hipoxia secundaria a diferentes condiciones clínicas como shock, neumonía, hemorragia aguda, edema pulmonar e insuficiencia cardíaca congestiva. También se han registrado casos de acidosis láctica en necrosis hepática, neoplasmas, linfomas, varias formas de leucemia, la deficiencia de tiamina y en la cetoacidosis diabética. Otras causas de acidosis láctica incluye la infusión intravenosa de ciertas sustancias como fructosa, sorbitol, epinefrina y la ingesta incrementada de alcohol y/o acetaminofeno.

Los niveles de lactato en el líquido cefalorraquídeo (LCR) son similares a sus niveles en sangre, pero en presencia de patologías del SNC la concentración de lactato en LCR varía en forma independiente observándose un aumento de los niveles de lactato en líquido cefalorraquídeo (LCR) en meningitis bacteriana, hipocapnia, hidrocefalia, abscesos cerebrales, isquemia cerebral y/o cualquier condición clínica asociada a una oxigenación reducida del cerebro, inflamación y/o presión intracraneal aumentada.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El lactato de la muestra es oxidado por la enzima específica lactato oxidasa (LOD). El peróxido de hidrógeno formado en esta reacción es luego utilizado por la peroxidasa (POD) para generar un cromógeno.



La intensidad cromática del complejo formado es directamente proporcional a la concentración de L-lactato en la

muestra y se determina midiendo el aumento de absorbancia a 540-550 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: TOOS 3,5 mM; ascorbato oxidasa (pepino) ≥ 30 U/ mL; buffer fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica $< 0.1\%$.

B. Reactivo B: 4-aminoantipirina 5 mM; lactato oxidasa (microorganismos) ≥ 10 U/mL; peroxidasa (rábano picante) ≥ 24 U/mL; buffer fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica $< 0,1\%$.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Solución fisiológica (NaCl 9 g/L).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: los reactivos sin abrir son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Plasma y LCR

a) Recolección: la muestra a recolectar puede ser plasma o líquido cefalorraquídeo. No utilizar suero.

Las muestras de sangre deben extraerse de una vena libre de estasis, si tiene una hemostasis mínima (inferior a 30 segundos) no afecta el nivel de lactato. Evitar en lo posible el uso de torniquete.

En caso de recolectar plasma, centrifugar dentro de los 15 minutos después de obtenida la muestra.

Los sistemas de recolección de muestras para plasma de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistema de recolección de muestras para plasma) seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

El LCR puede usarse directamente sin tratar.

b) Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar fluoruro/EDTA (**Anticoagulante G** de Wiener lab.), fluoruro/heparina y fluoruro/oxalato. Si se obtiene plasma sin inhibidores de la glucólisis (fluoruro) guardar la sangre entera en hielo y separar el plasma de las células dentro de un plazo de 15 minutos tras recogerla.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por triglicéridos hasta 1400 mg/dL, bilirrubina hasta 32 mg/dL, hemoglobina hasta 1000 mg/dL, heparina hasta 55 UI/L y ácido ascórbico hasta 50 mg/dL. Referirse a la bibliografía de Young para ver los efectos de otros interferentes en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras de plasma deben procesarse rápidamente, de lo contrario deben ser mantenidas a 2-10°C o congeladas a -20°C debido a que el lactato aumenta un 20% en 3 minutos y un 70% en 30 minutos a 25°C. Las muestras son estables 8 días a 2-10°C y 4 semanas a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Analizador automático.

PROCEDIMIENTO

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para determinación de lactato en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Muestra o Calibrador 2 uL

Reactivo A 175 uL

Incubar durante 120 segundos a 37°C. Leer absorbancia a 540-550 nm (blanco de muestra).

Reactivo B 35 uL

Incubar durante 300 segundos a 37°C. Leer absorbancia a 540-550 nm (concentración de lactato).

Los analizadores Wiener lab. calculan automáticamente la concentración de lactato de cada muestra.

CALIBRACION

El Calibrador A plus es procesado de la misma manera que las muestras y a partir de él se calcula el factor correspondiente. Los valores de concentración de lactato son variables lote a lote. Consultar los valores en el manual de instrucciones de Calibrador A plus de Wiener lab.

Se recomienda usar calibración a dos puntos después de cambiar lote de reactivo y cuando el control de calidad lo requiera.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de lactato.

VALORES ESPERADOS

Plasma

Sangre venosa: 4,5 - 19,8 mg/dL

Sangre arterial: < 11,3 mg/dL

LCR

Neonatos: 10 - 60 mg/dL

3-10 días: 10 - 40 mg/dL

> 10 días y adultos: 10 - 25 mg/dL

CONVERSION DE UNIDADES

1 mg/dL x 0,111 = 1 mmol/L

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

El nivel de lactato aumenta rápidamente luego de la actividad física. El tiempo requerido para retomar los valores basales depende de cada individuo pero generalmente con 30 minutos de reposo es suficiente.

Una vez activado el proceso de glucólisis, el nivel de lactato comienza a aumentar rápidamente. Debido a que las células presentes en el plasma favorecen este proceso, resulta fundamental separar el plasma del paquete globular rápidamente a fin de obtener concentraciones de lactato exactas. El lactato aumenta 20% en 3 minutos y 70% en 30 minutos a 25°C. Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas. Se recomienda utilizar Standatrol S-E 2 niveles de Wiener lab, como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	CV _{wr}	CV _t
11,6 mg/dL	± 0,15 mg/dL	1,3%	2,7%
21,9 mg/dL	± 0,26 mg/dL	1,2%	2,6%
38,5 mg/dL	± 0,50 mg/dL	1,3%	2,4%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 130 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra 1+2 partes con solución fisiológica (NaCl 9 g/L), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

c) Límite de detección: 0,7 mg/dL

d) Límite de cuantificación: 1,8 mg/dL

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

72 mL: 1 x 60 mL Reactivo A
1 x 12 mL Reactivo B
(Cód. 1999795)

72 mL: 1 x 60 mL Reactivo A
1 x 12 mL Reactivo B
(Cód. 1009380)

24 mL: 1 x 20 mL Reactivo A
1 x 4 mL Reactivo B
(Cód. 1009370)

24 mL: 1 x 20 mL Reactivo A
1 x 4 mL Reactivo B
(Cód. 1009668)

24 mL: 1 x 20 mL Reactivo A
1 x 4 mL Reactivo B
(Cód. 1009932)*

BIBLIOGRAFIA

- The Use of Lactate as a Biomarker. - Nicholas C. Watson and Stephen O. Heard. J Intensive Care Med 2010 25: 301.
- Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. - Ramon Martí, Encarna Varela, Rosa M. Segura, José Alegre, José M. Suriñach, and Carles Pascual. - Clinical Chemistry 43:6 1010–1015 (1997).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 5th edition 2001. Burtis CA, Ashwoos ER, editors.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. CLSI EP-5A Vol. 19 No.2.1999.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N°.16.2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N°.19.2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N°.34.2004.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

MD Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Lactate

Para a determinação de lactato em plasma e líquido cefalorraquidiano

SIGNIFICADO CLÍNICO

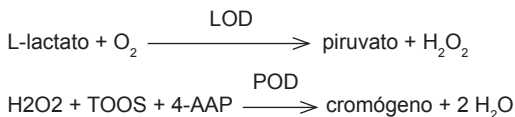
O ácido láctico, intermediário do metabolismo anaeróbico dos hidratos de carbono, provém principalmente do músculo esquelético, cérebro, pele, medula renal e eritrócitos. A concentração de lactato no sangue depende do equilíbrio entre a sua produção nestes tecidos e seu metabolismo no fígado e rins. Ao redor do 65% do lactato gerado é utilizado pelo fígado principalmente no processo de gliconeogênese. Quando a concentração de lactato é maior que 18 mg/dL (2 mmol/L), a depuração hepática de lactato é saturada, aumentando seu nível em sangue. Um exemplo concreto ocorre durante o exercício prolongado em que os níveis de lactato podem aumentar significativamente.

O aumento de lactato em sangue associado à diminuição de pH arterial é conhecido como acidose láctica. A diminuição da oxigenação tissular (hipoxia) é a causa mais comum de acidose láctica, por exemplo hipoxia secundária a diferentes condições clínicas como choque, pneumonia, hemorragia aguda, edema pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva. Também foram registrados casos de acidose láctica em necrose hepática, neoplasmas, linfomas, várias formas de leucemia, na deficiência de tiamina e na cetoacidose diabética. Outras causas de acidose láctica incluem infusão intravenosa de substâncias como frutose, sorbitol, epinefrina e a ingestão abundante de álcool e/ou acetaminofeno.

Os níveis de lactato no líquido cefalorraquidiano (LCR) são semelhantes aos níveis em sangue, mas em presença de patologias do SNC, a concentração de lactato em LCR varia em forma independente observando-se um aumento dos níveis de lactato em líquido cefalorraquidiano em meningite bacteriana, hipocapnia, hidrocefalia, abscessos cerebrais, isquemia cerebral e/ou qualquer condição clínica associada a uma oxigenação reduzida do cérebro, inflamação e/ou pressão intracraniana aumentada.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O lactato da amostra é oxidado pela enzima específica lactato oxidase (LOD). O peróxido de hidrogênio formado na reação é utilizado pela peroxidase (POD) para gerar um cromógeno.



A intensidade cromática do complexo formado é diretamente

proporcional à concentração de L-lactato na amostra e é determinado o aumento de absorbância a 540-550 nm.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: TOOS 3,5 mM; ascorbato oxidase (pepino) ≥ 30 U/ mL; tampão fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica $< 0.1\%$.

B. Reagente B: 4-aminoantipirina 5 mM; lactato oxidase (microrganismos) ≥ 10 U/mL; peroxidase (rábano picante) ≥ 24 U/mL; tampão fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica $< 0.1\%$.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- **Calibrador A plus** de Wiener lab.
- Solução fisiológica (NaCl 9 g/L).

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: os reagentes não abertos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

AMOSTRA

Plasma e LCR

a) Coleta: a amostra a coletar pode ser plasma ou líquido cefalorraquidiano. Não utilizar soro.

As amostras de sangue devem ser coletadas de uma veia sem garroteamento, embora um garroteamento mínimo (menor a 30 segundos) não afeta o nível de lactato. Evitar, se possível, o uso de torniquete.

Caso a amostra coletada seja plasma, centrifugar dentro dos 15 minutos após a amostra é obtida.

Os sistemas de coleta de amostra para plasma de diversos fabricantes, podem conter diferentes materiais que as vezes podem afetar os resultados. Se as amostras são processadas em tubos primários (sistema de coleta de amostras para plasma), seguir as instruções do fabricante dos tubos. O LCR pode ser utilizado diretamente sem tratar.

b) Aditivos: caso seja utilizado plasma, coletar com fluoreto/EDTA (**Anticoagulante G** de Wiener lab.), fluoreto/heparina e fluoreto/oxalato. Caso seja obtido plasma sem inibidores da glicólise (fluoreto), o sangue total deve ser conservado em gelo e separar o plasma das células dentro dos 15 minutos após a coleta.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não são observadas interferências por triglicerídeos até 1400 mg/dL, bilirrubina até 32 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/dL, heparina até 55 UI/L e ácido ascórbico até 50 mg/dL.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: as amostras de plasma devem ser processadas rapidamente, caso contrário devem ser mantidas a 2-10°C ou congeladas a -20°C já que o lactato aumenta 20% em 3 minutos e 70% em 30 minutos a 25°C. As amostras são estáveis 8 dias a 2-10°C e 4 semanas a -20°C.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Micropipetas para medir os volumes indicados
- Analisador automático

PROCEDIMENTO

(Analisador automático)

A seguir, é detalhado um procedimento geral para determinação de lactato em um analisador automático. Quando for utilizada a técnica para um analisador em particular, as instruções de trabalho do mesmo devem ser seguidas. Em uma cubeta mantida à temperatura escolhida, colocar:

Amostra ou Calibrador	2 μ L
------------------------------	-----------

Reagente A	150 μ L
-------------------	-------------

Incubação durante 120 segundos a 37°C. Ler absorbância a 540-550 nm (branco de amostra).

Reagente B	30 μ L
-------------------	------------

Incubação durante 300 segundos a 37°C. Ler absorbância a 540-550 nm (concentração de lactato).

Os analisadores Wiener lab. calculam automaticamente a concentração de lactato de cada amostra.

CALIBRAÇÃO

O **Calibrador A plus** é processado da mesma maneira que as amostras. A partir dele é calculado o fator correspondente. Os valores de concentração de lactato são variáveis lote a lote. Consultar os valores nas instruções de uso de Calibrador A plus de Wiener lab.

Recomenda-se utilizar calibração a dois pontos quando mudar o lote e quando seja requerido pelo controle de qualidade.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de lactato.

VALORES DE REFERÊNCIA

Plasma

Sangue venoso: 4,5 - 19,8 mg/dL

Sangue arterial: < 11,3 mg/dL

LCR

Neonatos: 10 - 60 mg/dL

3-10 dias: 10 - 40 mg/dL

> 10 dias e adultos: 10 - 25 mg/dL

CONVERSÃO DE UNIDADES

1 mg/dL x 0,111 = 1 mmol/L

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. O nível de lactato aumenta rapidamente após a atividade física. O tempo necessário para voltar aos valores basais depende de cada indivíduo, mas geralmente 30 minutos de repouso é suficiente.

Uma vez ativado o processo da glicólise, o nível de lactato começa aumentar rapidamente. Desde que as células presentes no plasma favorecem o processo de glicólise, é importante separar o plasma do pacote globular rapidamente para obter concentrações exatas de lactato.

O lactato aumenta 20% em 3 minutos e 70% em 30 minutos a 25°C.

Para preservar a integridade dos reagentes devem ser evitadas as contaminações utilizando para a medição micropipetas perfeitamente limpas e secas.

Recomenda-se utilizar **Standatrol S-E 2 níveis** da Wiener lab. como material de controle de qualidade, visto que com outros controles comerciais podem ser obtidos valores diferentes à faixa estabelecida, porque os mesmos são dependentes do método.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente replicados de uma mesma amostra, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	CVwr	CVt
11,6 mg/dL	\pm 0,15 mg/dL	1,3%	2,7%
21,9 mg/dL	\pm 0,26 mg/dL	1,2%	2,6%
38,5 mg/dL	\pm 0,50 mg/dL	1,3%	2,4%

b) Linearidade: a reação é linear até 130 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra 1+2 partes com solução fisiológica (NaCl 9 g/L), repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

c) Limite de detecção: 0,7 mg/dL.

d) Limite de quantificação: 1,8 mg/dL.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

APRESENTAÇÃO

72 mL: 1 x 60 mL Reagente A

1 x 12 mL Reagente B

(Cód. 1999795)

72 mL: 1 x 60 mL Reagente A
1 x 12 mL Reagente B
(Cód. 1009380)

24 mL: 1 x 20 mL Reagente A
1 x 4 mL Reagente B
(Cód. 1009370)

24 mL: 1 x 20 mL Reagente A
1 x 4 mL Reagente B
(Cód. 1009668)

24 mL: 1 x 20 mL Reagente A
1 x 4 mL Reagente B
(Cód. 1009932)*

REFERÊNCIAS

- The Use of Lactate as a Biomarker. - Nicholas C. Watson and Stephen O. Heard. J Intensive Care Med 2010 25: 301.
- Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. - Ramon Martí, Encarna Varela, Rosa M. Segura, José Alegre, José M. Suriñach, and Carles Pascual. - Clinical Chemistry 43:6 1010-1015 (1997).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 5th edition 2001. Burtis CA, Ashwoos ER, editors.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. CLSI EP-5A Vol. 19 No.2.1999.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N°.16.2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N°.19.2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N°.34.2004.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após a reconstituição
	Conteúdo
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
	Irritante
	Consultar as instruções de uso
	Calibrador
	Controle
	Controle Positivo
	Controle Negativo
	Número de catálogo



Lactate

For lactate determination in plasma and cerebrospinal fluid

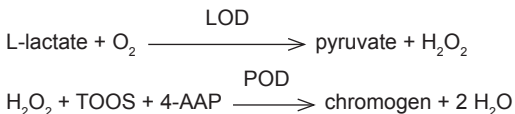
SUMMARY

Lactic acid, an intermediate in the anaerobic metabolism of carbohydrates, comes mainly from skeletal muscle, brain, skin, renal medulla and erythrocytes. Lactate concentration in blood depends on the balance between its production in the tissues and its metabolism in the liver and kidneys. Approximately 65% of the lactate produced is used mainly by the liver in the gluconeogenesis process. When lactate concentration is greater than 18 mg/dL (2 mmol/L) liver lactate clearance is saturated by increasing its blood level. A specific example occurs during prolonged exercise in which lactate levels may increase significantly. The increase in blood lactate associated with a decrease in blood pH is called lactic acidosis. The decrease in tissue oxygenation (hypoxia) is the most common cause of lactic acidosis, for example secondary hypoxia to different clinical conditions such as shock, pneumonia, acute hemorrhage, pulmonary edema and congestive heart failure. There have also been cases of lactic acidosis in hepatic necrosis, neoplasms, lymphoma, various forms of leukemia, thiamine deficiency and in diabetic ketoacidosis. Other causes of lactic acidosis include intravenous infusion of substances such as fructose, sorbitol, epinephrine, and increased intake of alcohol and/or acetaminophen.

Lactate levels in the cerebrospinal fluid (CSF) are similar to its levels in blood, but in the presence of CNS pathologies lactate concentration in CSF varies independently. It is observed an increase of lactate levels in cerebrospinal fluid (CSF) in bacterial meningitis, hypocapnia, hydrocephalus, brain abscess, cerebral ischemia and/or any clinical condition associated with a reduced oxygenation of the brain, inflammation and/or increased intracranial pressure.

PRINCIPLE

The lactate from the sample is oxidized by the lactate oxidase specific enzyme (LOD). The hydrogen peroxide formed in this reaction is then used by the peroxidase (POD) to generate a chromogen.



The color intensity of the complex formed is directly proportional to the concentration of L-lactate in the sample and is determined by measuring the increase in absorbance at 540-550 nm.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: 3.5 mm TOOS, ascorbate oxidase (cucumber) ≥ 30 U/mL; 100 mM phosphate buffer pH 7.8, sodium azide $< 0.1\%$.

B. Reagent B: 5 mM 4-aminoantipyrine, lactate oxidase (microorganisms) ≥ 10 U/mL peroxidase (horseradish) ≥ 24 U/mL 100 mM phosphate buffer pH 7.8, sodium azide $< 0.1\%$.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.
- Saline solution (9 g/L NaCl).

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A: ready to use.

Reagent B: ready to use.

WARNINGS

The reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents keeping standard work precautions in the clinical chemistry laboratory.

All reagents and samples must be discarded according to local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: Unopened reagents are stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box.

SAMPLE

Plasma and CSF

a) Collection: the collected sample may be plasma or cerebrospinal fluid. Do not use serum.

Blood samples must be collected from a vein free from stasis, although a minimal hemostasis (less than 30 seconds) does not affect lactate levels. Avoid where possible the use of tourniquet.

In the case of plasma is collected, centrifuge within 15 minutes after obtaining the sample.

Collection systems for plasma samples from different manufacturers may contain different materials, which in some cases may affect the results. If the samples are processed in primary tubes (sample collection system for plasma) follow the instructions of the tubes manufacturer.

The CSF may be used directly without being processed

b) Additives: in case plasma is collected, use fluoride/EDTA (Wiener lab. **Anticoagulante G**), fluoride/heparin and fluoride/oxalate. If plasma is obtained without inhibitors of glycolysis (fluoride), store the whole blood in ice and separate plasma from cells within 15 minutes after collection.

c) Known interfering substances: no interference is observed by triglycerides up to 1400 mg/dL, bilirubin up to 32 mg/dL, hemoglobin up to 1000 mg/dL, heparin up to 55 IU/L and ascorbic acid up to 50 mg/dL.

Refer to the literature of Young to see the effects of other interfering substances in this method.

d) Stability and storage instructions: plasma samples should be rapidly processed; otherwise they must be stored at 2-10°C or frozen at -20°C because the lactate increases 20% in 3 minutes and 70% in 30 minutes at 25°C. Samples are stable for 8 days at 2-10°C and for 4 weeks at -20°C.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Micropipettes for measuring stated volumes.
- Automated analyzer

PROCEDURE
(Automated analyzer)
A general procedure for determination of lactate in automated analyzers is detailed below. When implementing the technique on a particular analyzer, follow the same work instructions. In a cuvette maintained at the required temperature, place:

Sample or Calibrator	2 μ L
Reagent A	175 μ L

Incubate for 120 seconds at 37°C. Read absorbance at 540-550 nm (sample blank)

Reagent B	35 μ L
------------------	------------

Incubate for 300 seconds at 37°C. Read absorbance at 540-550 nm (lactate concentration).
Wiener lab analyzers automatically calculate lactate concentration for each sample.

CALIBRATION

Calibrator A plus is processed in the same way as the samples and the corresponding factor is calculated from it. The lactate concentration values vary batch to batch. Check the values in the package insert of Wiener lab's **Calibrator A plus**. We recommend using two-point calibration after changing reagent batch and when required by Quality Control.

QUALITY CONTROL METHOD

Process 2 levels of quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known concentrations of lactate.

REFERENCE VALUES

Plasma

Venous blood: 4.5 - 19.8 mg/dL
Arterial blood: <11.3 mg/dL

CSF

Newborns: 10 - 60 mg/dL
3 to 10 days old: 10 - 40 mg/dL
> 10 days old and adults 10 to 25 mg/dL

UNITS CONVERSION

$$1 \text{ mg/dL} \times 0.111 = 1 \text{ mmol/L}$$

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE. Lactate levels increase rapidly after physical activity. The time required to return to baseline depends on the individual but usually 30 minutes of rest is enough.

Once the process of glycolysis is activated, lactate levels begin to increase rapidly. Since plasma cells favor this process, it is essential to separate the plasma from the globular package quickly in order to obtain accurate concentrations of lactate. Lactate increases 20% in 3 minutes and 70% in 30 minutes at 25°C.

To preserve the integrity of the reagents avoid any kind of contamination, using only perfectly clean and dry micropipettes for measurement. The use of Wiener lab's **Standatrol S-E 2 niveles** as quality control material is recommended. Due to the use of controls from other trademarks values outside the specified range may be obtained, since they depend on the method or system used.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: simultaneously processing replicates from the same sample, the following values may be obtained:

Level	S.D.	CV _{wr}	CV _i
11.6 mg/dL	± 0.15 mg/dL	1.3%	2.7%
21.9 mg/dL	± 0.26 mg/dL	1.2%	2.6%
38.5 mg/dL	± 0.50 mg/dL	1.3%	2.4%

b) Linearity: the reaction is linear up to 130 mg/dL. For higher values dilute the sample 1+2 parts with saline solution (NaCl 9 g/L), repeat the determination and multiply the result by the dilution factor.

c) Detection limit: 0.7 mg/dL.

d) Quantification limit: 1.8 mg/dL.

WIENER LAB PROVIDES

72 mL: 1 x 60 mL Reagent A
1 x 12 mL Reagent B
(Cat. N° 1999795)

72 mL: 1 x 60 mL Reagent A
1 x 12 mL Reagent B
(Cat. N° 1009380)

24 mL: 1 x 20 mL Reagent A
1 x 4 mL Reagent B
(Cat. N° 1009370)

24 mL: 1 x 20 mL Reagent A
1 x 4 mL Reagent B
(Cat. N° 1009668)

24 mL: 1 x 20 mL Reagent A
1 x 4 mL Reagent B
(Cat. N° 1009932)*

REFERENCES

- The Use of Lactate as a Biomarker. - Nicholas C. Watson and Stephen O. Heard. J Intensive Care Med 2010 25: 301.

* CE mark pending

- Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. - Ramon Martí, Encarna Varela, Rosa M. Segura, José Alegre, José M. Suriñach, and Carles Pascual. - Clinical Chemistry 43:6 1010–1015 (1997).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 5th edition 2001. Burtis CA, Ashwoos ER, editors.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. CLSI EP-5A Vol. 19 No.2.1999.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N°.16.2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N°.19.2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N°.34.2004.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.



This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

	Authorized representative in the European Community
	"In vitro" diagnostic medical device
	Contains sufficient for <n> tests
	Use by
	Temperature limitation (store at)
	Do not freeze
	Biological risks
	Volume after reconstitution
	Contents
	Batch code
	Manufactured by:
	Harmful
	Corrosive / Caustic
	Irritant
	Consult instructions for use
	Calibrator
	Control
	Positive Control
	Negative Control
	Catalog number



Lactate

Zestaw odczynnikowy do ilościowego oznaczania mleczanów w osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym

Nr kat. 1999795 Nr kat. 1009668
Nr kat. 1009370 Nr kat. 1009932
Nr kat. 1009380

WSTĘP

Kwas mlekowy, metabolit pośredni metabolizmu beztlenowego węglowodanów pochodzi głównie z mięśni szkieletowych, mózgu, skóry, rdzenia nerek i krwinek czerwonych.

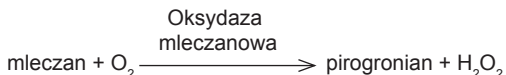
Stężenie mleczanów w surowicy zależy od równowagi pomiędzy ich produkcją i metabolizmem w wątrobie i nerkach.

Prawie 65% mleczanów powstaje w wątrobie w procesie glukoneogenezy. Jeśli stężenie mleczanów jest wyższe niż 18 mg/dl (2 mmol/l) wątrobowe usuwanie mleczanów jest wysyczone i podwyższa się ich poziom we krwi. Podczas dłuższych ćwiczeń poziom mleczanów może znacząco się podwyższyć. Podwyższeniu mleczanów we krwi towarzyszy obniżenie pH krwi i jest to tak zwana kwasica mleczanowa. Obniżenie utlenowania tkanek (hipoksja) jest najczęstszą przyczyną kwasicy mleczanowej, tak jak to jest na przykład we wtórnej hipoksji podczas szoku, zapalenia płuc, silnego krwotoku, obrzęku płuc zastoinowej niewydolności serca. Spotykano również przypadki kwasicy mleczanowej w martwicy wątroby, zmianach nowotworowych, chłoniakach, różnych białaczkach, niedoborze tiaminy i cukrzycowej kwasicy ketonowej. Inne przyczyny podwyższonego poziomu mleczanów to dożylna podanie takich substancji jak fruktoza, sorbitol, epinefryna, nadmierna podaż alkoholu i/lub acetoaminifenu.

Poziom mleczanów w płynie mózgowo-rdzeniowym jest zbliżony do poziomu we krwi ale w określonych patologiach ośrodkowego układu nerwowego stężenie mleczanów w płynie mózgowo-rdzeniowym zmienia się niezależnie. Obserwuje się także podwyższony poziom mleczanów w płynie mózgowo-rdzeniowym w bakteryjnym zapaleniu opon mózgowych, hipokapni, wodogłowiu, zapalenie mózgu, niedotlenienie mózgu i/lub każdym przypadku klinicznym połączonym ze zmniejszonym dopływem tlenu do mózgu, zapaleniu i/lub podwyższonego ciśnienia wewnątrzczaszkowego.

ZASADA DZIAŁANIA

Mleczan w próbce jest utleniany przez oksydazę mleczanu. Nadtlenek wodoru powstały w tej reakcji jest wykorzystywany przez peroksydazę (POD) do wytworzenia chromogenu.



TOOS: N-etylo-N-(2Hydroksy-3-sulfopropyl) m-aminotoluen

Intensywność zabarwienia powstałego kompleksu jest wprost proporcjonalne do stężenia mleczanu w próbce i jest mierzona jako przyrost absorbancji przy 540-550 nm.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: 3.5 mM TOOS, oksydaza askorbinowa (ogórek) ≥ 30 U/ml; 100mM bufor fosforanowy pH, 7.8, azydek sodu < 0.1 %

B. Odczynnik B: 5 mM 4-aminoantypiryna, oksydaza mleczanowa (bakteryjna) ≥ 10 U/ml, peroksydaza (chrzan) ≥ 24 U/ml, 100 mM bufor fosforanowy pH, 7.8, azydek sodu < 0.1 %.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Wiener lab. **Calibrador A plus**

- Roztwór soli fizjologicznej

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: są gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".

Przy pracy z odczynnikiem stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych. Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: odczynniki nie otwierane, jeśli są przechowywane w lodówce (2-10°C), są trwale do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

MATERIAŁ BADANY

Osocze lub płynie mózgowo-rdzeniowym

a) Pobranie: pobierać osocze lub płyn mózgowo-rdzeniowy. Surowicy nie należy pobierać. Krew należy pobierać bez użycia stazy, jakkolwiek krótkotrwałe zastosowanie stazy jest możliwe (mniej niż 30 sekund) i nie ma wpływu na poziom mleczanów. Unikać jeśli jest to możliwe opaski uciskowej. W przypadku osocza odwirować próbkę w ciągu 15 minut po pobraniu. Systemy do pobierania próbek osocza od różnych firm mogą zawierać różne antykoagulanty, które w niektórych przypadkach mogą mieć wpływ na wynik. Jeśli do oznaczenia są wykorzystywane próbki pierwotne należy przestrzegać instrukcji producenta próbek.

W przypadku płynu mózgowo-rdzeniowego można bezpośrednio wykonywać oznaczenia.

b) Substancje dodatkowe: jeśli materiałem do badania jest osocze zaleca się stosowanie fluoru/EDTA (Wiener

lab. **Anticoagulant G**) jako antykoagulantu lub fluorek/ szczawian. Jeśli osocze jest pobierane bez inhibitora glikolizy (fluorek), należy przechowywać pobraną krew w lodzie i oddzielić osocze od krwinek w ciągu 15 minut po pobraniu.

c) Znane interferencje: hemoglobina do poziomu 1000 mg/dl, bilirubina do 32 mg/dl, triglicerydy do 1400 mg/dl i kwas askorbinowy do 50 mg/dl nie mają wpływu na wynik badania. Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: oznaczenie należy wykonać niezwłocznie po pobraniu. Jeśli badanie nie może być wykonane od razu próbkę można przechować w lodówce (2-10°C) lub zamrozić (-20°C) ponieważ zawartość mleczanów podwyższa się o 20% w ciągu 3 minut i o 70% w ciągu 30 minut w 25°C. Próbkę można przechować do 8 dni w 2-10°C lub do 4 tygodni w -20°C.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczone)

- Pipety i mikropipety
- Analizator automatyczny

PROCEDURA

(automatyczny analizator)

Podstawowa procedura oznaczania mleczanów na analizatorze automatycznym została przedstawiona poniżej.

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania analizatorów automatycznych.

Badana / Kalibrator	2 μ l
----------------------------	-----------

Odczynnik A	175 μ l
--------------------	-------------

Inkubować przez 120 sekund w 37°C. Odczytać absorbancję przy 540-550 nm (próba ślepa).

Odczynnik B	35 μ l
--------------------	------------

Inkubować przez 300 sekund w 37°C. Odczytać absorbancję przy długości fali 540-550 nm (stężenie mleczanów).

Analizatory biochemiczne Wiener lab. automatycznie wyliczają stężenie mleczanów w każdej próbce.

KALIBRACJA

Calibrador A plus należy traktować tak jak próbkę badaną i na jego podstawie jest wyliczony współczynnik kalibracji. Wartości dla kalibratora są różne dla różnych numerów serii dlatego należy sprawdzać wartości podane w ulotce dołączonej do Calibrador A plus. Zaleca się dwupunktową kalibrację przy zmianie nr serii odczynnika lub ze wskazań kontroli jakości.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Do każdego oznaczenia należy dołączać dwa poziomy materiały kontrolnego (Standatrol S-E 2 niveles) zawierające mianowane wartości mleczanów dla tej metody.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Osocze

Krew żylna: 4.5 -19.8 mg/dl

Krew włośniczkowa: < 11.3 mg/dl

CSF

Noworodki: 10 - 60 mg/dl

Dzieci (3-10 dni): 10 - 40 mg/dl

Dzieci > 10 dni i dorośli: 10 - 25 mg/dl

PRZELICZANIE JEDNOSTEK

1 mg/dl x 0.111= 1 mmol/l

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Poziom mleczanów podwyższa się znaczne po aktywności fizycznej. Czas wymagany do powrotu do poziomu podstawowego zależy od właściwości osobniczych. Zazwyczaj wystarczający jest 30 minutowy odpoczynek.

Od momentu aktywacji procesu glikolizy poziom mleczanów podwyższa się bardzo szybko. Komórki osocza preferują proces glikolizy dlatego jest istotne jak najszybsze rozdzielenie osocza od frakcji komórkowej aby otrzymać właściwe stężenie mleczanów. Poziom mleczanów podwyższa się o 20% w ciągu 3 minut i o 70% w ciągu 30 minut w 25°C.

Aby zachować integralność odczynnika i zapobiec zanieczyszczeniu należy stosować czyste i suche końcówki do pipet. Zaleca się **Standatrol S-E 2 niveles** Wiener lab. jako materiał kontrolny. Zastosowanie materiału kontrolnego innej firmy może spowodować otrzymanie wyników poza zakresem wartości dopuszczalnych, ponieważ są one zależne od metody.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: wykonywano jednoczesne oznaczenia powtórek w tych samych próbkach, otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	CV _{wr}	CV _i
11,6 mg/dL	± 0,15 mg/dL	1,3%	2,7%
21,9 mg/dL	± 0,26 mg/dL	1,2%	2,6%
38,5 mg/dL	± 0,50 mg/dL	1,3%	2,4%

b) Liniiowość: do 130 mg/dl. W przypadku otrzymania wyższych wartości należy próbkę rozcieńczyć (1:2) sola fizjologiczną, powtórzyć oznaczenie a otrzymany wynik pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

c) czułość: 0.7 mg/dl.

WIENER LAB. DOSTARCZA

72 ml: - 1 x 60 ml odczynnika A

- 1 x 12 ml odczynnika B

(Nr kat. 1999795)

72 ml: - 1 x 60 ml odczynnika A

- 1 x 12 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009380)

24 ml: - 1 x 20 ml odczynnika A

- 1 x 4 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009370)

24 ml: - 1 x 20 ml odczynnika A

- 1 x 4 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009668)

24 ml: - 1 x 20 ml odczynnika A
- 1 x 4 ml odczynnika B
(Nr kat. 1009932)

ŹRÓDŁA

- The Use of Lactate as a Biomarker. - Nicholas C. Watson and Stephen O. Heard. J Intensive Care Med 2010 25: 301.
- Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. - Ramon Martí, Encarna Varela, Rosa M. Segura, José Alegre, José M. Suriñach, and Carles Pascual. - Clinical Chemistry 43:6 1010 - 1015 (1997).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 5th edition 2001. Burtis CA, Ashwoos ER, editors.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. CLSI EP-5A Vol. 19 No.2.1999.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N°.16.2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N°.19.2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N°.34.2004.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.



Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

- Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
- Wyrób do diagnostyki "in vitro"
- Zawartość wystarczająca dla <n> badań
- Użyć przed
- Ograniczenie dopuszczalnych temperatur
- Nie zamrażać
- Ryzyko biologiczne
- Objętość po rozpuszczeniu
- Zawartość
- numer serii
- Wytwórca
- Substancja szkodliwa
- Substancja żrąca
- Substancja drażniąca
- Przed użyciem zapoznać się z instrukcją
- Kalibrator
- Próba kontrolna
- Próba kontrolna dodatnia
- Próba kontrolna ujemna
- Numer katalogowy

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-77



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina